Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 15, No.4, 2023, p. 547-556

Effect of Growth Hormone Locus Polymorphism on Weight Gain of Gosling

Ghorban Elyasi Zarringhabaie[1*]

1- Scinetific Member of Animal Science Research Department, East Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tabriz, Iran.
*Corresponding Author's Email: Gh.elyasi@areeo.ac.ir

Received: 10-10-2022 Revised: 16-11-2022 Accepted: 27-11-2022 Available Online: 07-06-2022	**How to cite this article:** Elyasi Zarringhabaie, G. (2023). Effect of growth hormone Locus polymorphism on weight gain of gosling. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(4), 547-556. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.79036.1103

Introduction: Compared to other poultry, geese are more resistant to adverse environmental factors, so they are less likely to get sick. Geese are fast-growing poultry, and they are easy to raise. Due to the importance of goose meat due to its high calorie content compared to the meat of other poultry species and its high palatability, as well as its resistance to many diseases, it is necessary to raise this bird on an economic scale. In industrial goose breeding, there arises a need to develop strains tailored for specific purposes such as meat, egg, and dual-purpose. This allows breeders to align breeding objectives with associated costs and optimize productivity for the industry's requirements. Consequently, the economic coefficients of breeding, coupled with the relative selection of products, necessitate consideration in four primary aspects: achieving high weight gain, reducing the food conversion ratio, increasing the egg count, and enhancing egg fertility. It is crucial to acknowledge the negative correlation coefficient with the egg production trait within the realms of management and breeding sciences. This is because an improvement in one trait may inversely impact the values of another trait. Among the effective strategies in breeding, the selection is based on genetic markers that lead to the reduction of the generation gap and increase in production. Due to the ever-increasing growth of the population, a lot of effort is needed to overcome unfavorable environmental conditions, including biological and non-biological factors, and to increase the quantity and quality of the product. In recent years, many advances have been made in the field of molecular biology and biotechnology, which has provided a powerful tool for the genetic study of animals. Considering that the growth hormone gene (GH indicator) is one of the candidate genes for various traits, especially weight gain, but it has not been used in goose breeding programs so far. Therefore, in order to determine the contribution of this gene in goose breeding, its relationship with the weight gain trait of chickens should be determined, which is actually the purpose of designing and implementing this study.

Materials and Methods: In order to implement this research, 300 gosling hatched from eggs of Malekan research station geese and reared for 5 months. The hatched goose chicks were kept and fed according to breeding standards Gosling weighted monthly and blood samples was collected from them in vacuum tubes containing EDTA at end of raising period. Genomic DNA was extracted by Pronase procedure. A spectrophotometer was used to determine the quality of the extracted DNA, and for this purpose, a wavelength of 260 nm was used to determine the amount and concentration of DNA, and a wavelength ratio of 260/280 was used to determine the purity and quality of the extracted DNA. Amplification of the desired region from exon 2 of the growth hormone gene was done by thermocycler using the designed primers GH-G F and GH-G R to amplify 162 base pairs. 2% agarose gel with ethidium bromide staining was used to identify PCR products. The SSCP technique was used to determine the genotypes of the growth hormone gene. Denatured SSCP products was electrophoresed on 10% polyacrylamide gel and stained by silver nitrate. Effects of GH gene on growth performance were analyzed by SPSS software version 23 in CRD design.

https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.79036.1103

Results and Discussion: Genotypes pattern of 1, 2 and 3 were recognized. Frequencies of 1, 2 and 3 patterns resulted 48.15, 44.44 and 7.15 percent, respectively. Results indicated that GH genotypes affected live weight of gosling in 1 and 2 month of age, the 3th pattern had heavier live weight in these periods. Despite of heavier live weight in pattern 3, for months of 3, 4 and 5 no significant differences observed among them. Low frequency of pattern 3, that affected live weight in gosling, can be increased in study population in favor of this pattern. The results of this research showed that the growth hormone gene and especially exon 2 of this gene can be considered as a genetic marker in the selection of geese for the weight gain trait.

Conclusion: Given the considerable importance of the economic coefficient of egg production in geese, which outweighs the emphasis on increasing the weight of breeding geese, and considering that the economic activities of the station align more closely with augmenting the number of chicks produced per breeding goose, the observed negative correlation between egg production and weight gain in geese suggests a lower prevalence of the effective genotype influencing the weight gain of geese in this station. The selection focus at Malekan station has predominantly aimed at enhancing the egg laying rate, in stark contrast to the growth rate of geese. Consequently, this deliberate selection has led to an increase in the frequency of the effective genotype impacting egg laying and concurrently a reduction in the frequency of genotypes influencing the weight gain of goose chicks.

Keywords: Body weight, Geese, Genotype, Growth hormone, SSCP

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۵۵۶-۵۴۷

تأثیر جایگاه ژنی هورمون رشد بر افزایش وزن غازهای بومی

قربان الیاسی زرین‌قبایی[1*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۶

چکیده

هدف از این تحقیق، بررسی اثر ژنوتیپ‌های مختلف جایگاه اگزون ۲ هورمون رشد بر وزن زنده غاز می‌باشد. برای اجرای این تحقیق ابتدا تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه غاز از تخم تولیدی گله تحقیقاتی ایستگاه ملکان جوجه‌کشی شده و به‌مدت پنج ماه پرورش یافت. غازهای پرورشی ماهانه به‌صورت انفرادی وزن‌کشی شده و در پایان دوره پرورش از آن‌ها خون‌گیری به عمل آمد. پس از اخذ نمونه خون و استخراج DNA ژنومی، ناحیه مورد نظر از اگزون ۲ ژن هورمون رشد با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر شد. چندشکلی ژن هورمون رشد و ژنوتیپ غازها برای این ژن با روش SSCP و با استفاده از الکتروفورز محصولات PCR واسرشته شده بر روی ژل پلی‌آکریلامید ۱۰ درصد رنگ‌آمیزی شده با نیترات نقره تعیین گردید. تأثیر ژن هورمون رشد بر روی عملکرد رشد غاز با استفاده از نرم‌افزار SPSS و در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل گردید. در این تحقیق، فراوانی الگوهای ژنوتیپی ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب ۴۸/۱۵، ۴۴/۴۴ و ۷/۴۱ درصد حاصل گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده، تأثیر چندشکلی حاصل بر رشد جوجه غازها در سنین یک و دو ماهگی معنی‌دار بوده و الگوی ژنوتیپی سوم میانگین وزن زنده بیشتری را نشان داد. درصورتی‌که در ماه‌های سه، چهار و پنج علی‌رغم بالا بودن وزن زنده در غازهایی با ژنوتیپ سوم، اختلاف معنی‌داری حاصل نگردید. با توجه به پایین بودن فراوانی الگوی مؤثر در افزایش وزن جوجه غازها، انتظار می‌رود که افزایش فراوانی این ژنوتیپ در گله‌های پرورشی موجب افزایش میانگین وزن زنده جوجه غازها در مدت پرورش گردد.

واژه‌های کلیدی: ژنوتیپ، غاز، وزن بدن، هورمون رشد، SSCP

مقدمه

غازها نسبت به سایر طیور در برابر عوامل نامساعد محیطی مقاومت بیشتری داشته و از هشت هفتگی که رشد پرها تقریباً تکمیل می‌شود، مقاومتشان نسبت به عوامل محیطی نامناسب افزایش می‌یابد. غازها از ماکیان سریع‌الرشد هستند و پرورش آن‌ها به‌آسانی صورت می‌گیرد، زیرا گله‌های غاز احتیاج به جایگاه‌های پُرهزینه و تغذیه کاملاً دستی نداشته و با هزینه پایین می‌تواند پرورش یابد. در مکان‌هایی که مراتع سبز و چراگاه‌های خوب وجود دارد، گله‌های غاز می‌توانند به‌جز فصول سرد و زمستان، غذای خود را از محوطه چراگاه بدون هیچ‌گونه مشکلی به‌دست آورند (Ghelich, 1998). نظر به اهمیت گوشت غاز به‌دلیل داشتن مقدار کالری بالا نسبت به گوشت سایر گونه‌های طیور و خاصیت خوش‌خوراکی بسیار زیاد آن و همچنین مقاومت در برابر بسیاری از بیماری‌ها ایجاب می‌کند که این پرنده در مقیاس اقتصادی مورد پرورش قرار گیرد (Sarhangi *et al.*, 2001). غازها ازنظر تبدیل علوفه دارای الیاف خام بالا به پروتئین حیوانی قابل مصرف در تغذیه انسان، می‌توانند گزینه مناسبی به‌جای نشخوارکنندگان باشند، با توجه به ضرورت موجود در پرورش صنعتی غاز، باید سویه‌های گوشتی، تخمی و حتی دومنظوره به‌وجود آید تا بسته به هدف پرورش جوابگوی هزینه‌های پرورش بوده و بهره‌وری لازم برای صنعت را ایجاد نماید. لذا با توجه به اهمیت ضرایب اقتصادی پرورش و انتخاب نسبی محصول باید جمعیت و گله‌های پرورشی در چهار مسیر اصلی افزایش وزن بالا، کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش تعداد تخم و میزان بالای باروری تخم مورد توجه قرار گیرد، که استفاده از صفت افزایش وزن با توجه به ضریب همبستگی منفی با صفت تولید تخم باید با لحاظ علوم مدیریتی و اصلاح نژادی صورت پذیرد، چرا که افزایش در یک صفت موجب کاهش مقادیر صفت دیگر خواهد شد.

۱- عضو هیأت علمی بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، تبریز، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: Gh.elyasi@areeo.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.79036.1103

از جمله راهکارهای مؤثر در اصلاح نژاد، انتخاب بر اساس نشانگرهای ژنتیکی است که منجر به کاهش فاصله نسلی و افزایش تولید می‌گردد. به‌دلیل رشد روزافزون جمعیت تلاش زیادی برای غلبه بر شرایط نامساعد محیطی، اعم از عوامل زیستی و غیرزیستی و افزایش کمیت و کیفیت محصول لازم است. در سال‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در زمینه زیست‌شناسی مولکولی و زیست‌فناوری صورت گرفته است، اطلاعات به‌دست آمده از نشانگرهای DNA امروزه کاربردهای گسترده‌ای یافته‌اند که عمده‌ترین آن‌ها در پزشکی، پزشکی قانونی، تشخیص والدین، تشخیص بیماری‌های گیاهی و جانوری، مطالعات ژنتیک تکاملی و فیلوژنتیک، طبقه‌بندی موجودات زنده و اصلاح‌نژاد دام و طیور می‌باشد (Elyasi *et al.*, 2012). نشانگرهای ژنتیکی یا به عبارتی، نشانگرهای DNA در مدت دو دهه تکامل شگرف و حیرت‌آوری داشته‌اند که در این میان، انواع مختلف نشانگرهای DNA با تفاوت‌های زیادی ازنظر تکنیک و روش تولید، نحوه کاربرد، امتیازدهی، تجزیه، تحلیل و تفسیر نتایج به‌سرعت ابداع و معرفی شدند. در توسعه و تکامل نشانگرهای DNA، ابداع و معرفی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز[1] بیشترین نقش را داشته است، چرا که تکثیر قطعه خاصی از DNA توسط این واکنش اصول بسیاری از تکنیک‌های مولکولی است که به‌سرعت به‌عنوان یک ابزار قدرتمندی در ژنتیک مولکولی و روش‌های آزمایشگاهی به‌کار گرفته شده و کاربردهای آن روز به روز در حال توسعه و تکامل است (Elyasi *et al.*, 2012).

نشانگرهای ژنتیکی متصل به جایگاه‌های ژنی صفات مهم اقتصادی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بنابراین می‌توانند سرعت و کارآمدی برنامه‌های اصلاحی در حیوانات را بهبود ببخشند. هنگامی که ارتباطی بین چندشکلی DNA و یک صفت آشکار می‌گردد، چندشکلی DNA می‌تواند به‌عنوان نشانگر ژنتیکی کاندیدا برای برنامه‌های انتخاب به‌کمک نشانگر[2] مورد استفاده قرار گیرد (Chang *et al.*, 2012)، چرا که عموماً توالی آمینواسیدها در پروتئین‌ها تعیین‌کننده بیان، تکرار و عملکرد آن‌ها می‌باشد، لذا جهش‌هایی که ساختمان اولیه پروتئین را تغییر می‌دهند، می‌توانند این پارامترها را تحت تأثیر قرار دهند. وقتی که ناحیه کدکننده تغییراتی مانند حذف‌شدگی، اضافه‌شدگی، جابجایی و یا وارونگی را در خود می‌بینند، این عمل ممکن است باعث تغییرات عملکردی در بیان ژن گردد (Yang *et al.*, 2007).

هورمون رشد یک پلی‌پپتید ساده است که از گرانولوسیت‌های ائوزینوفیلی[3] هیپوفیز قدامی ترشح می‌گردد (Kato *et al.*, 2002)، و دارای عملکردهای فیزیولوژیکی متعددی در حیوانات است (Ma *et al.*, 2012) که می‌توان به تحریک رشد عضلات، تشکیل استخوان، تنظیم میزان چربی، متابولیسم، تولیدمثل، پیری و ... اشاره نمود که همگی مرتبط با رشد و تکامل حیوانات هستند (Millar *et al.*, 2010). بنابراین، رشد در حیوانات یک ویژگی چندعلتی است که از اثرات متقابل مولکولی و ژنتیکی پیچیده‌ای برخوردار بوده و یک نقش اصلی در مهره‌داران در این خصوص بازی می‌کند. در کنار وظیفه اصلی آن در تنظیم رشد موجودات، در چند فرایند فیزیولوژیکی دیگر که متابولیسم چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، شرکت می‌کند (Moller and Norreland, 2003). همچنین، ثابت شده است که در پایداری سیستم ایمنی نقش مهمی دارد (Jeay *et al.*, 2002). این اثرات پلیوتروپی هورمون رشد معمولاً با واسطه‌گری عامل رشد شبه انسولین ۱[4] به‌صورت غیرمستقیم انجام می‌پذیرد، که در کبد و سایر بافت‌ها در پاسخ به تحریک هورمون رشد ساخته می‌شود.

مطالعه واریانت‌های اللی ژن هورمون رشد به‌صورت گسترده به عنوان روشی برای توضیح نقش ژن در فعالیت‌های پلیوتروپی در حیوانات اهلی به‌کار گرفته شده است (Chang *et al.*, 2012). در پستانداران ژن هورمون رشد دارای ۶-۵ اگزون و به تبع آن ۵-۴ اینترون است (Mao *et al.*, 1995). cDNA حاصل از آن در حدود ۱۲۰۰-۸۰۰ جفت باز بوده و طول پروتئین با ساختمان اولیه آن متشکل از ۲۷-۱۶ اسیدآمینه و طول پروتئین کامل از ۱۹۱-۱۸۶ اسیدآمینه تشکیل شده است (Harvey and Doughaday, 1995). ژن هورمون رشد در طیور دارای پنج اگزون و چهار اینترون است که دارای چندشکلی بالا در طیور می‌باشد (Qiao *et al.*, 2011; Chang *et al.*, 2012).

بسیاری از مطالعات مربوط به ارتباط نشانگر با صفات در گونه‌های مختلف گزارش گردیده است و در این میان، مطالعه با استفاده از ریزآرایه cDNA بر روی اردک نشان داد که هورمون رشد یکی از ترانسکریپت‌های بیان شده متفاوت در غده هیپوفیز اردک است (Chang *et al.*, 2007). این محققین متوجه شدند که ژن هورمون رشد یک ژن هدف ارزشمند برای پیدا کردن جایگاه صفات اقتصادی است.

کاناساکو و همکاران (Kansaku *et al.*, 2008) گزارش کردند که ژن GH اردک ۵/۲۵ کیلوباز بوده و دارای پنج اگزون و چهار اینترون می‌باشد. این محققین بیان داشتند که این ژن ازنظر ساختمانی به ژن‌های GH مرغ و پستانداران شباهت دارد. در این ژن پنج جایگاه چندشکل تک نوکلئوتیدی در ناحیه پروموتور ژن هورمون رشد اردک تعیین گردید، ولی ارتباط این چندشکلی با صفات تولیدی

1- (PCR) Polymerase Chain Reaction
2- Marker-Assisted Selection (MAS)
3- Eosinophilic granulocytes
4- Insulin-like growth factor I (IGF-I)

ارائـه نشـده اسـت. گـروه دیگـری (Chang *et al.*, 2012) تصـمیم گرفتند تا بررسی‌های بیشتری بر روی ژن هورمون رشد اردک انجـام دهنـد، بنـابراین بـر روی نـواحی اگـزون متمرکـز گردیدنـد تـا چندشکلی‌های موجود در آن را تعیین نمایند. اثر چندشـکلی هورمـون رشـد بـر روی صـفات تولیـدمثلی در اردک (Chang *et al.*, 2012) مطالعه و مشخص گردید کـه جهـش در ناحیـه C3169T بـا میـزان باروری و حداکثر میزان قابلیت باروری در ارتباط است که اردک‌هـایی با ژنوتیپ CC دارای میزان باروری و مدت زمان باروری بیشـتری در مقایسه با CT هسـتند و همچنـین در جایگـاه C3700T اردک‌هـایی CC دارای مدت زمان باروری بیشتری در مقایسه با TT می‌باشند.

اطلاعات کمی در خصوص ژن هورمون رشد غـاز در مقایسـه بـا اردک و مرغ وجود دارد (Zhan and Yang, 2005) و به‌ویژه این که مطالعات سیستماتیک بسیار اندکی در ارتباط با چندشکلی ژن هورمون رشد و عملکرد تولیدی غاز وجود دارد. با توجه به این کـه هـیچ روش ایمونولوژیکی برای ارزیابی سطوح هورمون رشد در پلاسـمای غازهـا وجود ندارد، که مانع مطالعه تنظیم غدد درون‌ریز در این گونه می‌شود. چـن و همکـاران (Chen *et al.*, 2022) روش ELISA سـاندویچ را برای تعیین غلظت هورمون رشد در پلاسمای غازها ایجاد کردنـد کـه می‌تواند به‌طور موثر تفاوت در غلظـت هورمـون رشـد در نمونـه‌هـای پلاسما غازهـا در مراحـل مختلـف فیزیولـوژیکی را تشـخیص دهـد، بنابراین برای مطالعه آینده رشد و متابولیسم آن‌ها مفید خواهد بود.

همولوژی هورمون رشد غاز با مرغ و اردک در کل توالی آن‌ها بـه ترتیب ۷۷/۵۴ و ۹۲/۳۸ درصد و برای تـوالی CDS آن‌هـا بـه‌ترتیـب ۹۷/۶ و ۹۹/۹ درصد حاصل گردیـده اسـت (Zhao *et al.*, 2011a). این محققین تعداد SNP را در ناحیه کد شونده، شش عدد به‌ازای هـر ۱۰۰۰ نوکلئوتید و در ناحیـه اینتـرون‌هـا، دو عـدد بـه‌ازای هـر ۱۰۰۰ نوکلئوتید گزارش نمودند. این در حالی است که نقشـه تنـوع ژنتیکـی نشان می‌دهد که در ژنوم مرغ در حدود ۲/۸ میلیون SNP وجـود دارد که در هر ۱۰۰۰ نوکلئونید به‌طور متوسط پـنج جهـش پراکنـده شـده است (Nachman, 2001).

مدارک موجود در چند نژاد غاز سـفید پیشـنهاد کـرده اسـت کـه اگـزون دوم ژن هورمـون رشـد غـاز دارای طـول زیـادی اسـت، درصورتی‌که چهار اگزون دیگر کوتـاه مـی‌باشـند، و تمـام SNPهـای کشف شده بـر روی اگـزون ۲ قـرار دارنـد کـه ایـن اگـزون را بـرای مطالعات ژنتیکی منطقی می‌دانـد (Dong *et al.*, 2010)، کـه بعـدها چندشکلی ژن هورمون رشد غاز نژاد هـایووان[1] بـا اسـتفاده از PCR-SSCP به‌دست آمد (Zhang *et al.*, 2014)، که مـی‌توانـد معیـاری برای مطالعه مقایسه‌ای ژن هورمون رشد سایر نژادهای غاز قرار گیرد. لذا با توجه به این که ژن هورمون رشد (نشانگر GH) یکی از ژن‌های کاندید برای صفات مختلف و به‌خصوص افزایش وزن می‌باشـد، ولـی تاکنون در برنامه‌های اصلاح نژادی غاز به‌کار بـرده نشـده اسـت. لـذا جهت تعیین سهم این ژن در پرورش غـاز بایـد ارتبـاط آن بـا صـفت افـزایش وزن جوجـه‌هـا مشـخص گـردد. در ایـن میـان، اسـتفاده از فناوری‌های نوین و به‌ویژه زیست‌فناوری به‌جهت تسـریع در فراینـد و کاهش هزینه‌های اصلاح نژادی شایان توجه است که در واقع هـدف طراحی و اجرای این تحقیق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای تهیه جوجه غازها تعداد ۳۰۰ عدد جوجه از تخم‌های تولیدی گله غاز ایستگاه تحقیقات ملکان جوجه‌کشی گردیـد. جوجـه غازهـای تفریخ شده بر اساس استاندارد پرورشی نگهداری و تغذیه شدند. پـس از نصب شماره پا، در پایـان هـر مـاه بـه‌صـورت انفـرادی وزن‌کشـی گردیدند. پس از گذشـت پـنج مـاه و رسـیدن غازهـا بـه وزن کشـتار (مشاهده تغییرات کم در روند افزایش وزن)، خـون‌گیـری از آن‌هـا در لوله‌های تحت خلأ حاوی EDTA (جهت جلـوگیری از انعقـاد خـون) صورت گرفت. پس از خون‌گیـری، نمونـه‌هـای خـون بـه آزمایشـگاه منتقل‌شده و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اسـتخراج DNA نگهداری‌گردید.

استخراج DNA از نمونه‌های خون از ۱۰ میکرولیتر خون مطـابق روش بایلس و همکاران (Bailes *et al.*, 2007) و با استفاده از آنزیم پروناز به شرح زیر انجام گرفت. جهت تعیین کیفیت DNA اسـتخراج شده از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید، که برای ایـن منظـور از طول موج ۲۶۰ نانومتر برای تعیین مقدار و غلظت DNA و از نسـبت طول موج‌های ۲۶۰/۲۸۰ برای تعیین میزان خلوص و کیفیـت DNA استخراج شده استفاده گردید. تکثیر ناحیه مـورد نظـر از اگـزون ۲ ژن هورمون رشد توسط دستگاه ترموسایکلر و بـا اسـتفاده از آغازگرهـای طراحی شده GH-G F و GH-G R توسط نرم‌افزار اولیگو ۷ از ژنـوم غاز با شماره دسترسی XM_005021748.1 برای تکثیر ۱۶۲ جفـت باز با توالی زیر صورت گرفت.

GH-G F 5'- GTCGTGGTTTTCTCCTCTC - 3'
GH-G R 5'- AACTCTTTGTACGTCTCTGC - 3'

به‌منظور تعیین دقیق دمای اتصـال آغازگرهـا از شـیب حرارتـی[2] استفاده شده و سپس مرحله اصلی واکنش زنجیره‌ای پلـی‌مـراز بـا ۳۵ چرخه (۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه برای واسرشـته کـردن[3]، ۵۶ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیـه بـرای اتصـال[4] آغازگرهـا و ۷۲ درجه سانتی‌گراد بـه‌مـدت ۴۵ ثانیـه بـرای بسـط[5] زنجیـره DNA در دسـتگاه ترموسـایکلر[6] و در حجـم‌هـای ۲۵ میکرولیتـری واکـنش

1- Huoyan

2- Gradient
3- Denaturation
4- Annealing
5- Extension
6- Thermo cycler

زنجیره‌ای پلی‌مراز (بافر 1X PCR، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$، ۲۰۰ میکرومول مخلوط dNTPs، ۱۰ پیکومول از هر آغازگر، ۱ واحد Taq DNA Polymerase، ۷۵ نانوگرم DNA استخراج شده) صورت گرفت. جهت تشخیص محصولات PCR از ژل آگارز ۲ درصد با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده گردید. برای تعیین ژنوتیپ‌های ژن هورمون رشد، از تکنیک SSCP استفاده گردید که پنج میکرولیتر از محصولات تکثیر شده با ۱۰ میکرولیتر بافر SSCP به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و سپس به‌سرعت بر روی یخ منتقل گردیدند. محصولات SSCP بر روی ژل پلی‌آکریلامید ۱۰ درصد به‌مدت ۱۶ ساعت و با ۷۵ ولت الکتروفورز شده و با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند.

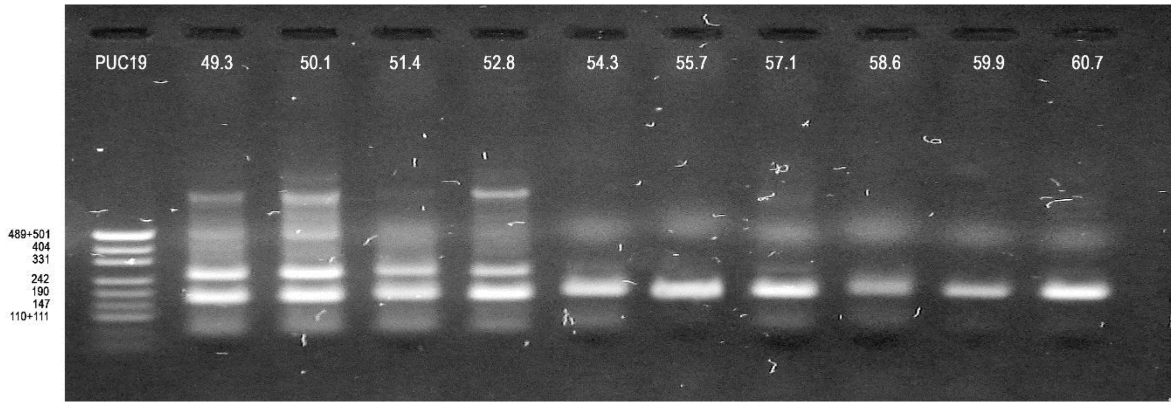
ارتباط ژنوتیپ‌های ژن هورمون رشد با وزن جوجه غاز با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۲۳ و در قالب طرح کاملاً تصادفی با مدل آماری زیر تجزیه و تحلیل گردید:

$$Y_{ij} = \mu + GH_j + e_{ij}$$

که در آن، Y_{ij}: عملکرد مورد نظر، μ: میانگین جمعیت، GH_j: اثر ثابت ژنوتیپ حاصله و E_{ij}: اثر تصادفی خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

به‌منظور تعیین بهترین دمای اتصال آغازگرها به ناحیه هدف از Gradient PCR استفاده گردید و محصولات تکثیر شده بر روی ژل آگارز ۲٪ با ۱۰۰ ولت به‌مدت دو ساعت الکتروفورز گردید. نتایج حاصل از شیب حرارتی برای تعیین دمای اتصال آغازگرها (شکل ۱) نشان داد که دمای مناسب اتصال ۵۶ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که با داشتن بیشترین میزان تکثیر ناحیه مورد نظر به‌طول ۱۶۲ جفت باز، هیچ‌گونه باند ناخواسته در این دما مشاهده نگردید.



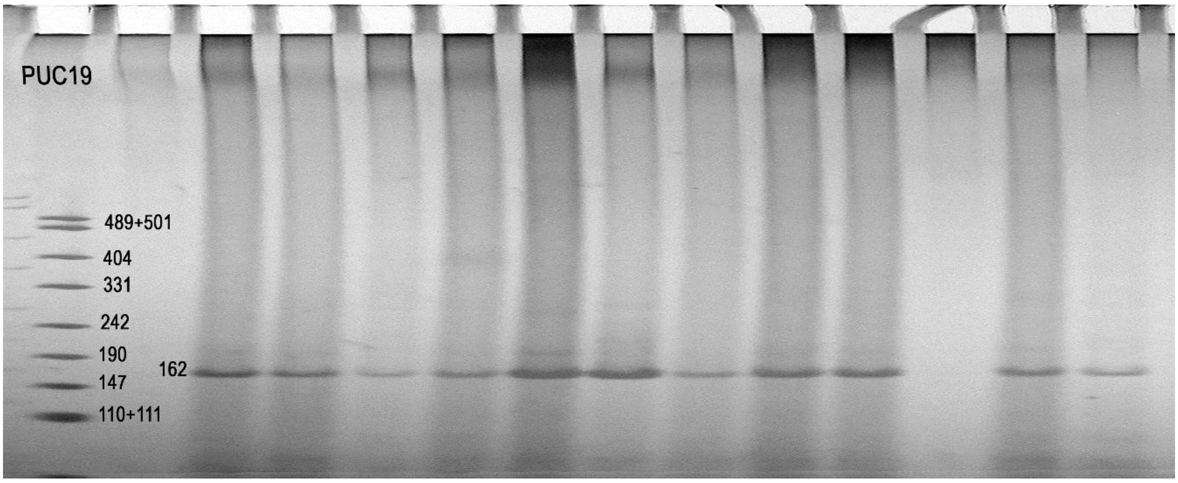
شکل ۱- تکثیر قطعه ۱۶۲ جفت بازی از ژن هورمون رشد غاز با استفاده از شیب حرارتی

Figure 1- Amplification of 162 bp fragment of goose growth hormone gene using thermal gradient

با توجه به دقت و حساسیت بالای ژل پلی‌آکریلامید، جهت اطمینان از صحت تکثیر در هنگام کار با نمونه‌های اخذ شده غاز، تعدادی از محصولات تکثیر شده بر روی ژل پلی‌آکریلامید ۱۰ درصد به‌مدت ۱۶ ساعت و ۷۵ ولت الکتروفورز گردید که در شکل ۲ قابل رؤیت می‌باشد، همان‌گونه که مشاهده می‌گردد، تکثیر اگزون ۲ از ژن هورمون رشد غاز به‌درستی صورت گرفته است، چرا که از روی توالی موجود در سایت NCBI و آغازگرهای مورد استفاده در تحقیق انتظار می‌رفت، قطعه ۱۶۲ جفت بازی تکثیر گردد.

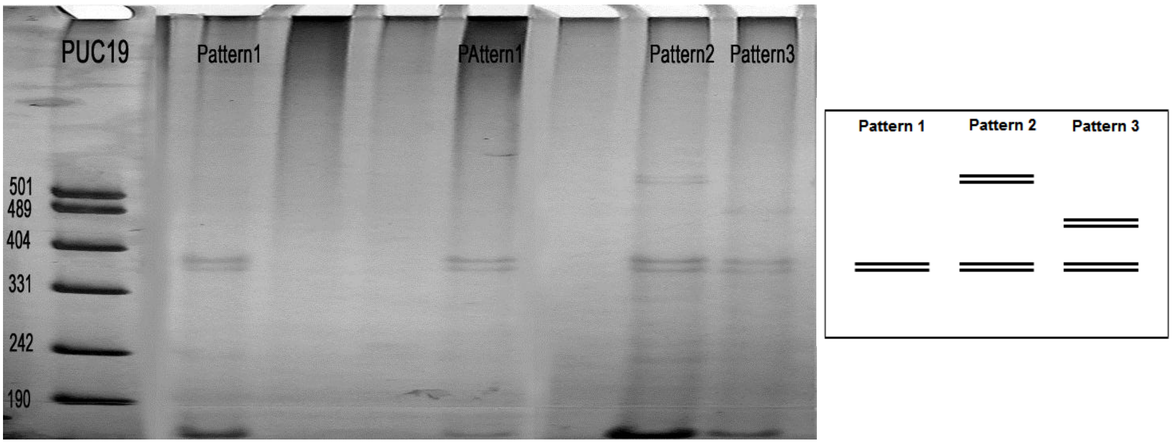
پس از تکثیر کلیه نمونه‌های مورد آزمایش، روش SSCP بر روی آن‌ها انجام گردید. شکل ۳ الکتروفورز محصولات حاصل از SSCP را بر روی ژل پلی‌آکریلامید ۱۰ درصد نشان می‌دهد که به‌مدت ۱۶ ساعت با ۷۵ ولت بارگذاری و با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد، در این تحقیق سه الگوی باندی متفاوت به‌دست آمد که به‌عنوان ژنوتیپ‌های حاصل از تکنیک SSCP در نظر گرفته شد. فراوانی الگوهای ۱، ۲ و ۳ در این تحقیق به‌ترتیب ۴۸/۱۵، ۴۴/۴۴ و ۷/۴۱ درصد حاصل گردید. ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2011b) برای اولین بار ژن هورمون رشد غاز را به‌طور کامل کلون کردند که شامل تمام جهش‌های موجود در نواحی کدکننده و توالی اینترون آن بود که ۱۱ SNP با روش PCR-SSCP و توالی‌یابی شناسایی گردید. این نتایج نشان داد که فراوانی جهش در ژن هورمون رشد غاز نسبت به همولوگ آن در مرغ بیشتر بوده و عمدتاً بر پایه جهش‌های مترادف استوار گردیده است و نتیجه‌گیری کردند که ژن هورمون رشد به‌صورت خیلی محافظه‌کارانه‌ای از لحاظ فیلوژنتیکی محافظت می‌گردد، که این حالت حفاظت شده ژن هورمون رشد نشان می‌دهد که این ژن، از لحاظ عملکردی برای طیور بسیار مهم بوده و یک نقش کلیدی در رشد و تکامل طیور بازی می‌کند (Wong *et al.*, 2004). ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2011b) چهار آلل را در اگزون ۲ ژن هورمون رشد غاز گزارش

نمودند که دارای ۱۰ الگوی ژنوتیپی بودند و برای اگزون ۴ همین ژن دو آلل با چهار ژنوتیپ معرفی نمودند. با توجه به این که در طول سال های فعالیت ایستگاه تحقیقات غاز ملکان انتخاب غازها بـرای صـفات مختلف صورت گرفته است، لـذا کـاهش تنـوع ژنتیکـی در ایـن گلـه تحقیقاتی و در جایگاه‌های ژنی قابل تصور بوده و کاهش تعداد آلل‌هـا و الگوهای ژنوتیپی دور از ذهن نمی‌باشد.



شکل ۲- محصولات تکثیر شده قطعه ۱۶۲ جفت بازی از ژن هورمون رشد غاز

Figure 2- Amplified products of 162 bp fragment of goose growth hormone gene



شکل ۳- الگوهای حاصل از SSCP برای ناحیه مورد نظر از ژن هورمون رشد غاز

Figure 3- Patterns resulting from SSCP for the target region of the goose growth hormone gene

تجزیه واریانس با استفاده از الگوهای باندی به‌دست آمـده نشـان داد که تأثیر ژنوتیـپ بـر وزن زنـده در مـاه‌هـای اول و دوم معنـی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵). در ماه اول پرورش الگـوی ژنـوتیپی ۱ کمتـرین وزن زنده را به خود اختصاص داده است که تفـاوت معنـی‌داری بـا دو ژنوتیپ دیگر نشان می‌دهـد و الگـوی بانـدی ۳ دارای بیشـترین وزن زنده می‌باشد که برای پرورش غاز مناسب می‌باشد (جدول ۱). با توجه به این که فراوانی این ژنوتیپ در جمعیت در حداقل می‌باشد، لـذا بـه نظر می‌رسد، انتخاب غازهای بر اساس این نشانگر و افـزایش میـزان فراوانی این الگو می‌تواند معیاری برای وزن غازهای پرورش باشد. چرا که با توجه به نتایج بدست آمده در ماه اول، افـزایش فراوانـی الگـوی سوم در گله مورد آزمایش می‌تواند تا ۴۰ درصـد وزن زنـده را در گلـه افزایش دهد. تحقیقـات آئـو و همکـاران (Ao *et al.*, 2006) ارتبـاط SNPهای موجود در غاز نژاد Rhine در ناحیـه اینتـرون ۲ را بـا وزن بدن و صفات لاشه معنی‌دار نشان داد. فنـگ و همکـاران (Feng *et al.*, 1997) گزارش کردند که نشانگر RFLP در ژن هورمـون رشـد مرغ با سن در اولین تخم‌گذاری و میزان تخم‌گذاری روزانه مرغ‌هـا در ارتباط است. بررسی ارتباط بین چندشکلی موجود در ژن هورمون رشد غازها ارتباط معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ارائه نمـوده بـود (Zhao *et al.*, 2011b). نتایج ارائه شده برای ماه دوم نشان می‌دهد که الگوی ژنوتیپی سوم دارای بیشـترین مقـدار وزن زنـده مـی‌باشـد

(P≤۰/۰۵) و همانند ماه اول پرورش با داشتن کمترین فراوانی می‌تواند در جهت اصلاح نژاد غاز برای وزن زنده مورد استفاده قرار گیرد، لذا انتخاب جوجه‌های تفریخ شده در راستای این ژنوتیپ و افزایش فراوانی آن در جمعیت موجب افزایش وزن غازهای پرورشی خواهد بود.

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد، تأثیر ژنوتیپ‌های اگزون ۲ ژن هورمون رشد بر وزن زنده غازهای پرورش در ماه‌های سه، چهار و پنج معنی‌دار نشده است، ولی علی‌رغم آن، وجود اختلاف معنی‌دار بین الگوهای حاصل، الگوی باندی ۳ دارای بیشترین وزن زنده می‌باشد که اختلاف وزن قابل قبولی نسبت به دو ژنوتیپ دیگر از خود نشان داده است. آنالیز واریانس با استفاده از داده‌های افزایش وزن هفتگی در نژادهای مختلف نشان داده است که نتایج بر اساس نژاد غازهای مورد بررسی متفاوت بوده است (Zhao *et al*., 2011b). لذا، نتایج حاصل از مطالعات مختلف علی‌رغم داشتن جهت همسو و هماهنگ، می‌تواند اعداد متفاوت داشته و بر سطح معنی‌داری و یا غیر معنی‌داری مطالعه تأثیر داشته باشد.

جدول ۱- تأثیر ژنوتیپ‌های اگزون ۲ ژن هورمون رشد بر وزن زنده جوجه غاز (گرم)

Table 1- The effect of exon 2 genotypes of the growth hormone gene on live weight of goose chicks (g)

ژنوتیپ Genotype	تعداد Number	۳۰ روزگی 30 days	۶۰ روزگی 60 days	۹۰ روزگی 90 days	۱۲۰ روزگی 120 days	۱۵۰ روزگی 150 days
الگوی ۱ Pattern 1	117	745.09±54.95^{b}	1624.73±299.61^{b}	2477.97±288.96	3246.13±378.54	3321.17±398.89
الگوی ۲ Pattern 1	108	996.28±150.80^{a}	1688.94±206.26^{b}	2488.80±275.10	3260.32±360.38	3328.73±400.39
الگوی ۳ Pattern 1	18	1036.33±321.82^{a}	1810.78±265.37^{a}	2561.24±279.17	3355.23±365.72	3424.10±186.89
جمع کل Total	248	996.96±245.65	1742.75±249.55	2488.95±279.45	3360.52±366.09	3327.71±385.56
ارزش P P value		0.031	0.050	0.795	0.798	0.820

میانگین هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

The average of each column with different letters has a significant difference at the 0.05 level.

در مطالعه ژانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2014) ارتباط چندشکلی هورمون رشد با برخی صفات تولیدی گزارش گردید. در این مطالعه، چهار آلل (آلل D غالب بود) با ۱۰ ژنوتیپ برای اگزون دوم ژن هورمون رشد حاصل شده که نتیجه دو تغییر در موقعیت بازهای ۳۹ و ۷۴ بوده که هر دوی آن‌ها جایگزینی C به‌جای T بوده که در جایگاه ۳۹ جهش خاموش بدون تأثیر در تغییر اسیدآمینه بوده و در جایگاه ۷۴ جایگزینی آلانین با والین در موقعیت اسیدآمینه ۲۵ بیان گردید. همچنین در مطالعه اخیر، دو تغییر در ژن هورمون رشد غاز در جایگاه‌های C123T و C158T ارتباط معنی داری با صفات وزن بدن در غاز نشان دادند که ژنوتیپ‌های CT برای جایگاه ۱۲۳ و ژنوتیپ TT برای جایگاه ۱۵۸ برای صفات وزن بدن غاز مناسب می‌باشند (Abdel Moniem *et al*., 2021). با توجه به تأثیر چندشکلی حاصل بر روی میزان رشد غازها در مطالعه حاضر، انتظار می‌رود که این چندشکلی بتواند بر توالی پروتئین هورمون رشد تأثیر داشته باشد، چرا که جهش‌های خاموش و بی‌معنی نمی‌توانند بر فعالیت بیولوژیکی موجودات تأثیر چندانی داشته باشند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ژن هورمون رشد و به‌خصوص اگزون ۲ این ژن می‌تواند به عنوان نشانگر ژنتیکی در انتخاب غازها برای صفت افزایش وزن مورد توجه قرار گیرد. با این وجود، روش‌های دیگری نیز مانند سنجش ارتباط غلظت هورمون‌های تولیدمثلی با صفات وزن بدن به‌کار گرفته شده است که می‌تواند از طریق اندازه قسمت‌های مختلف بدن (دور گردن، طول گردن، فاصله شرمگاهی و دور شکم) غازهای پر تولید ولانق[1] را انتخاب نماید (Liu *et al*., 2022).

طی بررسی‌های انجام‌یافته در سال‌های ۱۳۷۵ تا ۱۳۸۰ از طریق تکمیل پرسشنامه از نواحی و بخش‌ها، با توجه به آمار منتشره، پرورش غاز و استفاده از محصولات متنوع آن، پس از طیور و بوقلمون در جایگاه سوم ماکیان قرار داشته و توانسته است پای خود را به سبد غذایی مردم در نواحی خاص و به‌خصوص روستاهای کشور باز کند. با توجه به تقاضای روزافزون برای گوشت سفید غیر از گوشت مرغ در سال‌های اخیر و از طرفی دیگر، اصرار شدید برای مصرف فراورده‌های سالم غذایی و حتی محصولات ارگانیک که عاری از سموم، هورمون‌ها و بقایای آنتی‌بیوتیک‌هاست، انتظار می‌رود که در سال‌های آتی مصرف گوشت غاز با توجه به عدم نیاز این صنعت به آنتی‌بیوتیک به‌دلیل مقاومت بالای غاز به بیماری روند افزایشی طی نماید. لذا،

1- Wulong

استفاده از پتانسیل‌های پرورشی بالای غـاز نسـبت بـه سـایر ماکیـان ایجاب می‌کند که در آینده پرورش غاز به‌صورت صنعتی مـورد توجـه قرار گیرد و برای حصول این امر استفاده از فناوری‌های نوین زیسـتی و اصلاح نژادی جایگاه ویژه‌ای را جهت هموار نمودن مسیر و کـاهش زمان رسیدن به هدف ضروری است (Chang *et al.*, 2012).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد کـه در ناحیـه مـورد نظـر از اگزون ۲ ژن هورمون رشد غاز سه ژنوتیـپ بـا فراوانـی‌هـای ۴۸/۱۵، ۴۴/۴۴ و ۷/۴۱ درصد وجود دارد، که الگوی ژنوتیپی سوم بـا فراوانـی ۷/۴۱ درصد تأثیر مثبتی بـر روی وزن زنـده غـاز از خـود نشـان داده است. با توجه به این که ضریب اقتصادی تولید تخم در غاز از اهمیت زیادی برخوردار بوده و اهمیت بیشتری نسبت به افزایش وزن غازهای مولد به خود اختصاص داده است، به‌کـارگیری شـاخص انتخـابی کـه بتواند وزن مناسبی بـه صـفات تخـم‌گـذاری و افـزایش وزن بدهـد و انتخاب غازهای پرورشی و گوشتی در راستای این ژنوتیـپ بـه‌منظـور انتخاب و پرورش غازهای سنگین‌تر موجـب تسـریع در اصـلاح نـژاد غازهای بومی خواهد شد.

References

1. Abdel Moniem, H., Yusuf, M. S., & Chen, G. (2021). Ecology and population structure of some indigenous geese breeds and the impact of four GH and Pit-1 SNPs on their body weights. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(28),37603-37615. https://doi.org/10.1007/s11356-021-13402-x
2. Ao, J. X., Li, H., Wang, Q. G., & Wang, Y. X. (2006). Polymorphism of intron 2 of growth hormone gene and its relationship with body weight and carcass traits in goose. *Chinese Journal of Animal Science*, *42*,9-11.
3. Bailes, S. M., Devers, J. J., Kirby, J. D., & Rhoads, D. D. (2007). An inexpensive, simple protocol for DNA isolation from blood for high-throughput genotyping by polymerase chain reaction or restriction endonuclease digestion. *Poultry Science*, 86(1),102-106. https://doi.org/10.1093/ps/86.1.102
4. Chang, M. T., Cheng, Y. S., & Huang, M. C. (2012). The SNP genotypes of growth hormone gene associated with reproductive traits in Tsaiya ducks. *Reproduction in Domestic Animals*, *47*(4),568-573. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01918.x
5. Chang, M., Yang, K., Lin, C., Chen, C., Pan, C., Liou, J., & Rouvier, R. (2007). Investigation of differentially expressed transcripts in pituitary glands of post-laying brown Tsaiya ducks using cDNA microarray. *Journal of Chinese Society in Animal Science*, *36*,94.
6. Chen, R., Guo, R. H., Lei, M. M., Zhu, H. X., Yan, L. Y., & Shi, Z. D. (2022). Research note: Development of a sandwich ELISA for determining plasma growth hormone concentrations in goose. *Poultry Science*, *101*(3),101631. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101631
7. Dong, B., Wang, J., Duan, X., Sun, G., Zhu, S., & Li, X. (2010). Polymorphism of the exons of growth hormone (GH) gene in goose. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, *26*(5),1020-1025.
8. Elyasi Zarringhabaie, G., Javanmard, A., & Pirahary, O. (2012). Random amplified polymorphic markers as indicator for genetic conservation program in iranian pheasant (*Phasianus colchicus*). *The Scientific World Journal*, *Volume 2012*, Article ID: 640381. https://doi.org/10.1100/2012/640381
9. Feng, X., Kuhnlein, U., Aggrey, S., Gavora, J., & Zadworny, D. (1997). Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor gene in a White Leghorn strain. *Poultry Science*, *76*(12),1770-1775. https://doi.org/10.1093/ps/76.12.1770
10. Ghelichi, R. (1998). Goose breeding Native Poultry and Other Poultry Department, Vice-Chancellor of Livestock Affairs, Ministry of Jihad and Agriculture. pp. 3-4. (In Persian)
11. Harvey, S., & Daughaday, W. (1995). Growth hormone release: profiles. *Growth Hormone*,193-223.
12. Hasani, A. R., Houshmand Shamsai, A., Afraz, F., Asadpour, M. R., & Sarhangi, Y. (2001). Investigating the distribution, breeding status and production and phenotypic characteristics of geese in the Azarbaijan region. The final report of East Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center. (In Persian)
13. Jeay. S., Sonenshein, G. E., Postel-Vinay, M. C., Kelly, P. A., & Baixeras, E. (2002). Growth hormone can act as a cytokine controlling survival and proliferation of immune cells: New insights into signaling pathways. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *188*,1-7. https://doi.org/10.1016/S0303-7207(02)00014-X
14. Kansaku, N., Soma, A., Furukawa, S., Hiyama, G., Okabayashii, H., Gue´mene, D., Kuhnlein, U., & Zadworny, D. (2008). Sequence of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*) growth hormone-encoding gene and genetic variation in the promoter region. *Animal Science Journal*, *79*,163-170. https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2008.00513.x
15. Kato, Y., Murakami, Y., Sohmiya, M., & Nishiki, M. (2002). Regulation of human growth hormone secretion and its disorders. *Internal Medicine*, *41*(1),7-13. https://doi.org/10.2169/internalmedicine.41.7
16. Liu, J., Zhang, D., Zhang, Z., Chai, W., Zhang, J., Li, M., & Zhu, M. (2022). Comparison of body size and reproductive hormones in high-and low-yielding Wulong geese. *Poultry Science*, *101*(3),101618.

https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101618
17. Ma, Q., Liu, S., Zhuang, Z., Lin, L., Sun, Z., Liu, C., & Tang, Q. (2012). Genomic structure, polymorphism and expression analysis of the growth hormone (GH) gene in female and male Half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Gene, 493*(1),92-104. https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.11.015
18. Millar, D. S., Horan, M., Chuzhanova, N. A., & Cooper, D. N. (2010). Characterization of a functional intronic polymorphism in the human growth hormone (GHI) gene. *Human Genomics, 4*(5),289. https://doi.org/10.1186/1479-7364-4-5-289
19. Moller, N., & Norrelund, H. (2003). The role of growth hormone in the regulation of protein metabolism with particular reference to conditions of fasting. *Hormone Research, 59* (Suppl 1),62-68. https://doi.org/10.1159/000067827
20. Mou, L., Liu, N., Zadworny, D., Chalifour, L., & Kuhnlein, U. (1995). Presence of an additional PstI fragment in intron 1 of the chicken growth hormone-encoding gene. *Gene, 160*(2),313-314. https://doi.org/10.1016/0378-1119(95)96895-8
21. Nachman, M. W. (2001). Single nucleotide polymorphisms and recombination rate in humans. *Trends in Genetics, 17*,481-485. https://doi.org/10.1016/S0168-9525(01)02409-X
22. Qiao, N., Chen, Q., Cheng, J. H., & Xu, Q. (2011). Comparative genomic analysis of growth hormone gene in geese. *Animal Science Journal, 82*(1),62-66. https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2010.00812.x
23. Sarhangi, Y., Nazeradl, K., Lotfolahian, H., Kamali, M. A., Hasani, A. R., & Asadpour, M. R. (2001). Investigating the effect of different levels of protein and energy on the efficiency of meat production in native geese of Azerbaijan. The final report of East Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center. (In Persian)
24. Wong, G. K., Liu, B., Wang, J., Zhang, Y., Yang, X., Zhang, Z., Meng, Q., Zhou, J., Li, D., & Zhang, J. (2004). International Chicken Polymorphism Map Consortium: A genetic variation map for chicken with 2. 8 million single-nucleotide polymorphisms. *Nature 432*, 717-722. https://doi.org/10.1038/nature03156
25. Yang, F. P., Chen, Y. Q., Li, S. P., Li, Q. S., & Wang, J. Y. (2007). Study on the single nucleotide polymorphism of Myostatin gene's coding region in three domestic goose. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition), 28*,29-32.
26. Zhan, K., & Yang, N. (2005). Effects of polymorphism in the coding region of GH gene on serum GH, T3 levels and body weight of ducks. Paper presented at the *Proceedings of the 3rd World Waterfowl Conference*, Guangzhou ,China.
27. Zhang, Y., Zhu, Z., Xu, Q., & Chen, G. (2014). Association of polymorphisms of exon 2 of the growth hormone gene with production performance in huoyan goose. *International Journal of Molecular Sciences, 15*(1),670-683. https://doi.org/10.3390/ijms15010670
28. Zhao, W. M., Qiao, N., Wang, X. B., Chen, Q., Cheng, J. H., Xu, Q., & Chen, G. H. (2011a). Comparative genomic analysis of growth hormone gene in geese. *Animal Science Journal, 82*,62-66. https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2010.00812.x
29. Zhao, W. M., Zaoe, R. X., Qiao, N., Xu, Q., Huang, Z. Y., Li, X., Zhang, Y., & Chen, G. H. (2011b). Association of GH polymorphisms with growth traits in goose. *Journal of Animal and Veterinary Advances, 10*(6),692-697.